

MÉTODOS DE LABORATORIO EN PSIQUIATRÍA BIOLÓGICA

AITOR CASTILLO * y ALEJANDRO MIYAHIRA **

KEY WORDS: *Laboratory Methodology — Biological Psychiatry.*
PALABRAS CLAVE: *Métodos de Laboratorio — Psiquiatría Biológica.*

El avance de la psiquiatría ha sido significativo en las últimas dos décadas y es cada vez más importante realizar pruebas analíticas que permitan la identificación, aislamiento y cuantificación de una serie de sustancias potencialmente vinculadas a los desórdenes mentales así como el control riguroso del tratamiento farmacológico.

Los autores presentan algunos métodos que se emplean con relativa frecuencia en los laboratorios de investigación con la finalidad de familiarizar al clínico con ellos y alentar su utilización provechosa. Se revisan los principios físico-químicos en que se sustentan, las áreas de aplicación y las ventajas y desventajas de las siguientes técnicas: Cromatografía de gas, cromatografía líquida de alta presión, radioinmunoensayo, inmunoensayo enzimático, espectrofotometría de absorción atómica, espectrometría de masa y ensayo de radiorreceptores.

Laboratory Methods in Biological Psychiatry

Psychiatry has developed significantly in the last two decades, thus it is of the utmost relevance to perform analytical studies in order to identify, isolate and measure many substances related to mental disorders, and to carry on drug therapy monitoring.

The authors present some methods that are used in the research laboratories to let the clinicians become familiar with them. The physico-chemical principles, applications, and advantages and disadvantages are briefly discussed regarding gas chromatography, high-pressure liquid chromatography, radioimmunoassay, enzymatic immunoassay, atomic absorption spectrophotometry, mass spectrometry and radioreceptor assay.

* Departamento Académico de Psiquiatría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos y Universidad Peruana Cayetano Heredia. Laboratorio de Psiquiatría Biológica, Instituto Nacional de Salud Mental "Honorio Delgado-Hideyo Noguchi".

** Laboratorio de Psiquiatría Biológica, Instituto Nacional de Salud Mental "Honorio Delgado-Hideyo Noguchi".

INTRODUCCION

El avance de la psiquiatría ha sido significativo en las últimas dos décadas debido a su acercamiento a las corrientes biológicas, que le ha permitido beneficiarse de los adelantos tecnológicos aplicados a la medicina. Los aspectos relacionados con las ciencias naturales ocupan con creciente amplitud las páginas de las revistas y las horas de los congresos dedicados a esta especialidad. Las teorías bioquímicas se han multiplicado y los hombres de ciencia se han lanzado a la identificación de una vasta serie de moléculas y elementos como probables protagonistas en la génesis de las enfermedades mentales. Es, de esta manera, irrenunciable para el psiquiatra moderno conocer sobre neurotransmisores, neuromoduladores, sistemas hormonales, elementos trazas, etc. De igual modo, cada vez es más importante la realización de pruebas analíticas que permitan ajustes adecuados de las dosis cuando se conduce un tratamiento psicofarmacológico, de manera que sea posible entender las respuestas clínicas desde un punto de vista fármacocinético.

Recientemente, algunos métodos se han hecho disponibles para medir los niveles de psicofármacos en los fluidos biológicos con un grado aceptable de simplicidad y eficacia. En la actualidad, términos como "ventana terapéutica", "marcador biológico", "predictor de respuesta" y "dosaje plasmático" constituyen un lenguaje cotidiano en la literatura psiquiátrica. Más aún, es

probable que en los próximos años los criterios diagnósticos incluidos en los sistemas de clasificación y nomenclatura incorporen datos biológicos tales como alteraciones enzimáticas, disfunciones neuroendocrinas, código genético y respuestas a drogas, para aumentar significativamente su confiabilidad y especificidad.

Al amparo de estas consideraciones es fácil entender por qué la presencia del laboratorio se ha privilegiado en el contexto heurístico y clínico de la especialidad. Allí se realizan serios esfuerzos para llenar el vacío que media entre una psiquiatría científica y una psiquiatría empírica. Paralelamente se ha enfatizado la necesidad de concretar la imagen de "hombres-puente" que comuniquen activamente el trabajo clínico con el de laboratorio (43).

Este trabajo tiene la intención de presentar, apretadamente, algunos procedimientos que se emplean con relativa frecuencia en los laboratorios de investigación para impulsar el avance de la psiquiatría. Al mismo tiempo, esperamos facilitar la lectura e interpretación de los artículos vinculados con el tema y alentar un uso más provechoso de las técnicas disponibles.

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

En los estudios de psiquiatría biológica se emplean dos métodos cromatográficos con mayor preferencia: cromatografía de gas (CG) y cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Cromatografía de gas

1. Principio

Las moléculas interactúan entre sí en base a sus propiedades físico-químicas, adhiriéndose con mayor o menor afinidad, dependiendo de su polaridad y conformación estructural.

Para separar los diversos componentes de una muestra se la hace pasar a través de una sustancia apropiada que está fijada a un soporte inerte. Así, los componentes irán quedando retenidos durante lapsos proporcionales a la afinidad que tengan por dicha sustancia. En este caso, la muestra que migra se denomina fase móvil y la sustancia fijada al soporte se llama fase estacionaria (24).

En la CG la fase móvil es un gas como el nitrógeno, helio o hidrógeno, que se encarga de transportar la muestra a través de una columna que contiene a la fase estacionaria, donde habrán de ser retenidos los componentes de acuerdo a las interacciones específicas que se produzcan (24, 25). Mediante detectores especiales, los componentes se identifican de acuerdo a características tales como longitud de onda, capacidad de emitir fluorescencia, conducción térmica, etc.

2. Aplicación

La CG permite la identificación y cuantificación de diversas moléculas, tanto de origen orgánico cuanto inorgánico, por lo que en

psiquiatría se la utiliza para el estudio de aminas biógenas y diversos psicofármacos, incluyendo los metabolitos que se originan en el organismo. Muchos de los trabajos pioneros en el campo de las correlaciones entre los niveles plasmáticos y las respuestas terapéuticas fueron realizados con CG. Por ejemplo, los estudios de CURRY *et al.* (1968, 1970) permitieron identificar más de 100 metabolitos formados en el organismo a partir de la administración de clorpromazina, muchos de los cuales retienen la actividad terapéutica. Hay evidencias de que los pacientes refractarios al tratamiento con clorpromazina tienen vías metabólicas que originan metabolitos inactivos (46).

También se debe al desarrollo de la CG la determinación de los niveles plasmáticos de antidepresivos y sus relaciones con la respuesta clínica que llevaron el concepto de "ventana terapéutica" a la psiquiatría (45, 48).

Los primeros intentos para subdividir bioquímicamente los desórdenes depresivos se iniciaron a partir del momento en que se pudo medir con CG la concentración de MHPG, surgiendo el concepto de depresión "A" y "B", dependiendo del nivel de dicho metabolito y las respuestas a la imipramina, la amitriptilina y la anfetamina (35).

3. Ventajas y desventajas

La CG constituye una técnica de gran poder resolutivo que es

capaz de separar varias decenas de elementos contenidos en una misma muestra. Es mucho más específica y sensible que la cromatografía de capa fina, requiriéndose cantidades de la muestra en microlitros y con una capacidad de detección en el orden de nanogramos.

Uno de los inconvenientes es la extrema laboriosidad de los procedimientos químicos para preparar la muestra antes de ser analizada. Esto impone contar con personal altamente calificado que no siempre está disponible.

Por otra parte, las altas temperaturas que se usan dificultan el trabajo con moléculas termo-estables como son las materias biológicas, a menos que se sigan complejas técnicas de derivación (24, 25).

Cromatografía líquida de alta presión

1. Principio

Es el mismo que para la CG, excepto que en la HPLC la fase móvil es un líquido impulsado a un flujo constante por un mecanismo de bombeo que transporta la muestra a través de la columna (50).

2. Aplicación

La HPLC ocupa un lugar preponderante entre las técnicas de separación actuales. Sus propiedades la hacen una metodología muy apropiada en biomedicina y

neuroquímica, siendo adaptable para ensayos con una amplia variedad de compuestos de relevancia clínica (5).

Uno de los campos de aplicación más importante es la caracterización y aislamiento de nuevos neuropéptidos. Precisamente la aplicación exitosa de la HPLC en los ensayos químicos de péptidos cerebrales tales como la betalipotropina, la oxitocina, la colecistoquinina, la vasopresina y los factores hipotalámicos reguladores de hormonas, ha permitido un avance considerable en la formulación de nuevas teorías etiopatogénicas de las enfermedades mentales y una aproximación terapéutica de indudable rigor científico (4, 27).

Mediante la selección de detectores apropiados, el investigador puede concentrar sus esfuerzos en grupos específicos de moléculas. Por ejemplo, usando detectores de fluorescencia es posible la determinación de serotonina, triptofano, 5-hidroxi-triptofano, ácido 5-hidroxi-indolacético y las enzimas triptofano-hidroxilasa y monoamino-oxidasa. Para cuantificar las catecolaminas y sus metabolitos son necesarios los detectores electroquímicos (1, 30, 56). Los detectores de absorción ultravioleta hacen factible el dosaje de una innumerable cantidad de drogas, entre las cuales se encuentran los antidepresivos, los antipsicóticos, los anticonvulsivantes, la cocaína y los productos metabólicos originados a partir de aquéllas (40, 41).

Sería sumamente extenso citar la enorme lista de trabajos que uti-

lizan la HPLC para estudiar las correlaciones entre los niveles plasmáticos de los psicofármacos y sus acciones clínicas (22, 29, 39, 49).

3. Ventajas y desventajas

La HPLC tiene un gran poder de resolución y su capacidad de detección es del orden de los picogramos y nanogramos. Su especificidad permite el reconocimiento de diversos compuestos que están presentes en la misma muestra, por lo que hay una mayor tendencia a utilizar la HPLC más que la CG, otorgando un mejor rendimiento general debido a una tremenda flexibilidad donde la combinación apropiada de fases móviles y estacionarias resuelve convenientemente los diversos componentes de la muestra.

Por otra parte, no son necesarios los tratamientos fisicoquímicos sofisticados que se emplean en la CG y el tiempo de análisis suele ser más corto, aunque en ciertos casos debe esperarse hasta más de 30 minutos para cada examen. Además, no existen problemas con las moléculas termosensibles.

Inevitablemente, también la HPLC requiere la presencia de personal especialmente entrenado y de equipos costosos que demandan un mantenimiento cuidadoso y regular (5, 50).

MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

Estos métodos se basan en la competición de dos fracciones de una misma sustancia (fracción

marcada y fracción sin marcar) por la unión a un mismo anticuerpo específico. Si se enfrentan cantidades fijas y conocidas de antígeno marcado y su anticuerpo con cantidades variables de antígeno sin marcar (presente en la muestra), se producirá una competencia entre ambos antígenos por los receptores libres del anticuerpo, dando origen a la formación de complejos antígeno-anticuerpo con y sin marca.

Conociendo la concentración del antígeno marcado y del anticuerpo es posible determinar, mediante un simple cálculo matemático, la concentración del antígeno sin marcar presente en la muestra que se analiza (8).

A continuación nos referiremos a dos de estos métodos: radioinmunoensayo (RIA) e inmunoensayo enzimático (EMIT).

Radioinmunoensayo

1. Principio

La administración de una sustancia al organismo vivo estimula la formación de anticuerpos que tendrán actividad tanto *in vivo* cuanto *in vitro* y serán capaces de unirse a la sustancia original marcada radioactivamente.

Se puede ajustar la concentración del anticuerpo *in vitro* y administrar, simultáneamente, el antígeno marcado y una muestra donde se sospecha la presencia del antígeno natural (sin marcar, por supuesto). Se producirá, entonces, una competencia entre el antígeno

marcado y el antígeno no-marcado por la unión al anticuerpo.

Una vez que termina el período de incubación de la reacción debe separarse el antígeno unido al anticuerpo del antígeno libre y, finalmente, medirse la radioactividad de ambas fracciones. De esta forma quedará determinada la concentración de la sustancia que se deseaba estudiar.

Resumiendo, son necesarios cuatro componentes para realizar un RIA (8):

a. Un anticuerpo altamente específico y afin por la sustancia que se quiere medir.

b. Un antígeno marcado radioactivamente.

c. Un método que permita separar el antígeno marcado que está unido al anticuerpo del antígeno que permanece libre.

d. Un antígeno sin marcar para ser usado como patrón de referencia en la medición de concentraciones desconocidas.

2. Aplicación

Las investigaciones en psiquiatría han seguido varias estrategias neuroendocrinas con la finalidad de examinar diferentes aspectos de los mecanismos reguladores a nivel neuronal. Así, mucho se ha avanzado estudiando el comportamiento de las hormonas hipotalámicas e hipofisarias en relación a ciertos estados mórbidos y su respectiva manipulación farmacológica (6). Muchos investigadores señalan que en pacientes con depresión mayor se producen respuestas anormales ante la administración

de hormona liberadora de tirotrópina y de dexametasona (54). El método más útil para hacer las determinaciones de cortisol y hormona estimulante de tiroides es el RIA. Esta técnica permite el estudio de la función pituitaria de manera confiable, rápida y económica.

Debe señalarse, sin embargo, que la especificidad del RIA no es absoluta, especialmente para los péptidos porque los anticuerpos no pueden reconocer toda la secuencia de la molécula, sobre todo si ésta es muy extensa (51).

En la actualidad, el RIA constituye la técnica más conveniente para la determinación de las endorfinas y las encefalinas, sustancias vinculadas de manera creciente a la etiopatogenia de los desórdenes mentales (10).

En el campo de la psicofarmacología, el RIA es de invaluable ayuda para el dosaje de neurolépticos en cantidades tan pequeñas como las contenidas en 0.1 ml de suero, detectándose concentraciones de 1 a 50 ng/ml, rango en el que se sitúan dichas drogas en la ventana terapéutica (52).

3. Ventajas y desventajas

Los procedimientos de RIA son generalmente simples, sensibles y rápidamente aplicables al análisis de rutina. Sin embargo, la especificidad no es tan alta como se desearía. Por ejemplo, la cuantificación plasmática de la clorpromazina se ve bastante complicada por la presencia de una enorme cantidad de metabolitos

formados a partir de aquélla en el organismo vivo, de manera que es necesario el empleo de métodos alternativos como la HPLC (38).

Desafortunadamente, el RIA conlleva una serie de desventajas entre las cuales merecen citarse las siguientes: los reactivos que se utilizan tienen una vida biológica corta que exige una rápida implementación, el instrumental es costoso y el uso de material radioactivo implica un control gubernamental y la construcción de ambientes especiales en el laboratorio (8).

Inmunoensayo enzimático

1. Principio

Como todo método inmunológico, se basa en los mecanismos de acoplamiento que se producen entre un antígeno y un anticuerpo. En el sistema EMIT los marcadores son enzimas y el proceso, a grandes rasgos, es como sigue.

A la solución que contiene la sustancia a estudiar se le agrega un anticuerpo específico acompañado del sustrato de la enzima marcadora y la coenzima NAD. Luego, se incorpora una cantidad conocida de la sustancia que se está determinando, marcada con la enzima. De esta manera se producirá una competencia por los sitios de unión del anticuerpo, durante el cual sólo la enzima de la fracción libre podrá actuar sobre el sustrato y reducir la NAD a NADH, lo cual puede ser cuantificado mediante la técnica espectro-

fotométrica midiéndose el cambio de absorbancia. Así quedará indicada la concentración de la sustancia presente en la muestra porque la actividad de la enzima se correlaciona con la concentración de aquélla (23, 53).

2. Aplicación

El mayor campo de aplicación del EMIT es el monitoreo de drogas, siendo posible la determinación plasmática y urinaria de antidepresivos tricíclicos, benzodiazepinas, anticonvulsivantes, betabloqueadores y drogas de abuso tipo cocaína, barbitúricos y anfetamina.

En el caso de los antidepresivos tricíclicos, todavía hay discrepancias sobre la relación que parece existir entre la concentración plasmática y la respuesta clínica; sin embargo, se ha establecido que las aminas secundarias como la nortriptilina tienen una relación curvilínea en contraste con la relación lineal de las aminas terciarias como la imipramina (3).

El manejo apropiado de los anticonvulsivantes exige un control efectivo de sus concentraciones sanguíneas, señalándose el rango terapéutico con bastante precisión: para la difenilhidantoína, entre 10 y 20 mcgr/ml; para el fenobarbital, entre 15 y 40 mcgr/ml; para la carbamazepina, entre 8 y 12 mcgr/ml; para la etosuximida, entre 40 y 100 mcgr/ml y para el ácido valproico entre 50 y 100 mcgr/ml (7, 32). Por arriba de tales cifras se incrementa significativamente la incidencia de

efectos tóxicos tales como ataxia, nistagmus y letargia (9, 37).

El EMIT es, también, muy útil para la determinación de cocaína y sus metabolitos en la orina, con con un buen grado de sensibilidad (26).

3. Ventajas y desventajas

La sensibilidad está en el orden de microgramos por mililitro pero la especificidad es inferior a la de los métodos cromatográficos. El EMIT es más económico que la HPLC y CG y necesita de personal con poco entrenamiento relativo.

Al ser un sistema inmunoenzimático, prescinde del paso de separación de las fracciones que están unidas a las proteínas y las que permanecen libres, lo que permite obtener los análisis en muy poco tiempo (23). Este método no necesita material radioactivo como el RIA.

Una de sus desventajas radica en el número de exámenes que deben realizarse pues se requiere de tantas determinaciones como drogas haya que detectarse; por ejemplo, si un paciente estuviera medicándose con tres anticonvulsivantes simultáneamente, el EMIT demandará tres ensayos por separado; en cambio, la HPLC permitirá identificar todos ellos, incluidos algunos metabolitos, mediante una sola corrida de la muestra (44).

Si bien el equipo cuesta varios miles de dólares y la compra de los reactivos debe hacerse a compañías extranjeras, el costo por muestra

es el más económico después de la cromatografía de capa fina. Cuando los reactivos son reconstituidos tienen una vida útil inferior a los 5 meses, lo que obliga a emplearlos dentro de ese lapso para no perder el material y recuperar la inversión. La muestra no necesita de ningún procesamiento previo y apenas bastan microlitros para llevar adelante la reacción.

Métodos espectrométricos

La espectrometría permite conocer la estructura y composición química de diversos elementos, al mismo tiempo que mide su concentración en las muestras. Dos técnicas que han alcanzado un desarrollo importante son la espectrofotometría de absorción atómica (AA) y la espectroscopia de masa (MS).

Espectrofotometría de absorción atómica

1. Principio

Si se hace pasar un haz de luz a través de un medio que contiene muchos átomos en estado de reposo, se producirá una absorción parcial de la luz. Dicho de otra manera, la aplicación de energía en la forma de luz excita a los átomos de un elemento determinado. De esta forma, es posible conocer la concentración del elemento midiendo el grado de absorción.

Previamente es necesario atomizar las moléculas con el fin de dejar en libertad a los átomos para que puedan ser excitados por la

luz proveniente de una lámpara catódica de tubo, la cual emitirá una luz de una longitud de onda específica para cada elemento.

El método más empleado para separar los átomos de una molécula es calentándolos con una llama que tendrá características apropiadas para el elemento en estudio. Por ejemplo, en la determinación de litio es necesaria una llama producida por una mezcla de acetileno y aire que alcanza una temperatura máxima de 2300° (47).

2. Aplicación

La AA es muy conveniente para la determinación de concentraciones muy pequeñas de iones. En psiquiatría tiene su mayor aplicación en la determinación del litio sérico en pacientes medicados con sales de litio.

Es ampliamente aceptado que el litio tiene una ventana terapéutica cuyos valores extremos fluctúan entre 0.5 y 2 mEq/l, dependiendo del estado clínico del paciente y la escuela del investigador. Así, algunos afirman que el nivel plasmático no debe ser mayor que 1.2 mmol./l. a las 12 horas en el tratamiento de la manía aguda mientras que otros mantienen a sus pacientes en un nivel de 0.8-1.2 mmol./l. sin considerar el estado evolutivo del paciente. Incluso hay autores que afirman que concentraciones tan bajas como 0.4 mmol./l. son efectivas para mantener una buena profilaxis (13, 28).

No debe olvidarse, empero, que es también importante conocer la

concentración a la que los efectos tóxicos se hacen evidentes porque no necesariamente han de coincidir con las concentraciones terapéuticas (2).

La AA puede ser utilizada para el dosaje de los niveles intracelulares y extracelulares *in vitro* y así determinar la tasa de litio, un valor potencialmente útil en el estudio de los factores genéticos de los trastornos afectivos y en la predicción de la respuesta al tratamiento (42).

En el campo de la investigación neuroquímica la AA permite la cuantificación de los elementos —traza (cobre, magnesio, calcio, zinc, etc.), que en los últimos años han sido involucrados en la etiopatogenia de los desórdenes mentales (11).

3. Ventajas y desventajas

El análisis con AA es rápido, fácil y no necesita personal especialmente entrenado. Es suficiente contar con volúmenes muy reducidos pues 1 ml es adecuado.

El costo es relativamente módico. La sensibilidad de la AA es semejante a la de la técnica tradicional de fotometría de llama pero resulta más sencillo optimizar la llama en AA para evitar los problemas de la emisión en banda de aquella. Además, la especificidad es mayor porque no se presentan interferencias con los otros elementos presentes en la muestra (19, 34, 36).

Las desventajas se derivan de la situación de dependencia tecnoló-

gica y estrechez económica de nuestros países, que limitan la adquisición de accesorios, repuestos y el mantenimiento de los equipos.

Espectrometría de masa

1. Principio

En la gran mayoría de casos el espectrómetro de masa actúa como un detector acoplado a un cromatógrafo de gas (CG/MS), de manera que se logra una técnica altamente específica y sensible. El espectrómetro de masa es un instrumento capaz de detectar cantidades sumamente pequeñas de sustancias que pasan a lo largo de la columna empleada en la CG, pudiendo detectar con toda propiedad los compuestos de un determinado peso molecular, excluyendo a muchos otros que podrían interferir con el análisis.

En la CG/MS la muestra es separada en sus componentes por la columna, derivándolos hacia un ionizador que los somete a un intenso bombardeo de electrones con la consiguiente fragmentación en iones. Estos, a su vez, son filtrados de acuerdo a la relación entre su masa y su carga eléctrica. La concentración de cada fragmento es constante y puede ser cuantificada en atomoles (1 atomol = 10-18 gramos).

El proceso requiere la formación de iones cargados del compuesto estudiado y el aislamiento e identificación subsecuente de éstos. Todas las reacciones se llevan a cabo en el vacío absoluto (25, 31).

2. Aplicación

Con la técnica de CG/MS se puede precisar la estructura molecular de las aminas biógenas, péptidos, drogas, metabolitos, etc. Luego puede cuantificarse la concentración respectiva en los tejidos biológicos.

La mayor utilidad de la CG/MS reside en la habilidad de la MS para diferenciar compuestos sobre la base de su peso molecular. Por ejemplo, mediante la administración de isótopos estables de sustancias endógenas, sus precursores biológicos o drogas, es posible medir la tasa de recambio e identificar los metabolitos. Así, la CG/MS se usa en psiquiatría para dosar los niveles de los psicofármacos en los fluidos biológicos (31).

3. Ventajas y desventajas

La gran ventaja radica, indudablemente en las extremadamente altas sensibilidad y especificidad. La MS puede ser combinada con la CG para lograr una metodología poderosa y versátil que permite aprovechar la capacidad de separación de la CG y las virtudes inherentes a la MS.

La técnica de CG/MS es muy costosa por lo que sólo es recomendable para fines de investigación sofisticada. La inversión inicial es del orden de los 60 mil dólares y el grado adecuado de conocimiento del operador es bastante más complejo que para los otros métodos.

Ensayo de radiorreceptor (RRA)

1. Principio

La cantidad de una sustancia marcada radioactivamente que se une específicamente a un receptor, es una función cuantitativa de la proporción de sustancia sin marcar que está presente en el ensayo. Se dice entonces que dicha sustancia es un ligando unido al receptor de un neurotransmisor o una droga, de forma que para medir a estos últimos sólo se necesita determinar la cantidad de ligando radioactivo que se ha unido a la membrana en presencia y ausencia de una solución que contenga una concentración desconocida del ligando sin marcar. Así, es posible calcular la cantidad de ligando sin marcar presente en la muestra, comparando la inhibición de la unión del ligando radioactivo producida por la solución en estudio con la inhibición producida por cantidades conocidas de tal solución (21).

2. Aplicación

Se han desarrollado métodos de RRA para dosar neurolépticos, benzodiazepinas, neuropéptidos, neurotransmisores, etc. El RRA es muy versátil, permitiendo el análisis cualitativo y cuantitativo de estas moléculas (12, 14).

En el caso de los neurolépticos, varios estudios han demostrado que los niveles inferiores a 50 ng/ml de "equivalente de clorpromazina" se asocian a pobres

resultados terapéuticos o, en otros casos, los valores muy altos conducen al mismo resultado. Esto no hace más que subrayar la importancia que tiene el monitoreo de drogas y lo necesario que es contar con métodos como el RRA que se caracterizan por su eficacia y una relativa simpleza que permiten precisar las correlaciones entre las concentraciones plasmáticas de los psicofármacos y las respuestas clínicas (18, 55).

En el caso de las benzodiazepinas, que forman muchos metabolitos activos al pasar por el hígado, es difícil establecer tales correlaciones; pero, mediante el RRA es posible medir la actividad farmacológica global, que incluye a la benzodiazepina original y los metabolitos y conducir estudios comparativos en términos semejantes a los neurolépticos (20).

3. Ventajas y desventajas

Las ventajas principales son :

- a. La rapidez del ensayo que permite la determinación de docenas de muestras en pocas horas.
- b. La elevada sensibilidad.
- c. La simpleza metodológica.
- d. El relativo bajo costo.

La desventaja fundamental consiste en la poca especificidad, puesto que el RRA se basa en el desplazamiento de un ligando radioactivo por una sustancia presente en una muestra, siendo imprescindible demostrar que la única sustancia capaz de interferir con el

ligando es precisamente la que se quiere estudiar (21).

Esto se aplica al trabajo con psicofármacos lo cual se ilustra con el siguiente ejemplo: Supongamos que se desea medir la concentración de un neuroléptico X en el suero de un paciente. Para ello se agrega el suero a un medio donde existe haloperidol marcado radioactivamente en presencia de membranas celulares ricas en receptores dopaminérgicos. Se establecerá una competencia entre X y haloperidol para ocupar los receptores. La concentración de X estará correlacionada linealmente con la reducción de la unión del haloperidol marcado al receptor.

El RRA no sólo habrá medido la concentración de X sino de toda otra sustancia que también tenga capacidad de unirse al receptor dopaminérgico, de manera que

si X tuviera metabolitos activos similarmente serían detectados.

Es por esta razón que las concentraciones de los neurolépticos son expresadas en términos de "equivalentes de clorpromazina", lo cual indica el valor de clorpromazina que produciría un grado de inhibición de la unión igual al que se aprecia con el neuroléptico en estudio.

El RRA mide la actividad farmacológica global en contraste con la HPLC que lo hace de forma individualizada con cada droga; sin embargo, los métodos cromatográficos se justifican en instituciones dedicadas a la investigación a pesar de las enormes dificultades técnicas que ofrecen. En ese sentido el RRA permite un manejo más simple, aplicable a situaciones de rutina y con personal menos entrenado (15).

REFERENCIAS

- ALONSO, R.; GIBSON, C.; MCGILL, J. (1981): "Determination of 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol in urine by high performance liquid chromatography with amperometric detection" *Life Sci.* 29: 1689-1696.
- AMDISEN, A. (1980): "Serum concentration and clinical supervision in monitoring of lithium treatment". En: *Frontiers in therapeutic drug monitoring*. Tognoni, G., Latini, R. Jusko, W. (Eds.). Raven Press, New York.
- BALDESSARINI, R. J. (1979): "Status of psychotropic drug blood level assays and other biochemical measurements in clinical practice". *Am J Psychiatry* 136: 1177-1180.
- BOHLEN, P. (1979): "High-performance liquid chromatography in neuro-peptide research". *Psychopharmacol Bull* 15: 46-48.
- BOHLEN, P.; NECKERS, L. (1980): "High-performance liquid chromatography in the neurosciences: methodology". En: *Physicochemical methodologies in psychiatric research*. Hanin, I. & Koslow, S. (Eds.). Raven Press, New York.
- BROWN, G.; GROTA, L. (1979): "Use of immunologic techniques in the examination of neurotransmitters and neuro-modulators". *Psychopharmacol Bull* 15: 50-51.
- BRUNI, J.; WILDER, B.; WILLMORE, L. et al. (1978): "Clinical efficacy of valproic acid in relation to plasma levels". *Can J Neurol Sci* 5: 385-387.
- BRUNSWICK, D. (1979): "Principles

- of radioimmunoassay". *Psychopharmacol Bull* 15: 51-52.
9. BUCHTHAL, F.; SVENSMARK, O. (1971): "Serum concentration of diphenylhydantoin and phenobarbital and their relation to therapeutic and toxic effects". *Psychiatr Neurol Neurochir* 74: 117-136.
 10. CASTILLO, A. (1982): "Péptidos opioides, dolor y enfermedad mental: ¿Una asociación causal?" *Revista de Neuropsiquiatría* 45: 99-106.
 11. CASTILLO, A.; ORDOÑEZ, L. (1981): "Rol del calcio, magnesio, cobre y zinc en algunas enfermedades mentales". *Acta Cient Venezolana* 32: 123-131.
 12. COHEN, B., LIPINSKI, J., POPE, H., et al. (1980): "Radioreceptor assays for neuroleptic drugs and clinical research in psychiatry". *Psychopharmacol Bull* 16: 82-84.
 13. CRAMMER, J.; ELITHORN, A.; LENNOX, R. (1980): "Lithium concentrations and clinical responses". En: *Drug concentrations in neuropsychiatry*. Ciba Foundation Symposium 74 Excerpta Médica, Amsterdam, pp. 81-98.
 14. CREESE, I.; SNYDER, S. (1977): "A simple and sensitive radioreceptor assay for antischizophrenic drugs in blood". *Nature* 270: 180-182.
 15. CURRY, S. (1985): "Commentary: The strategy and value of neuroleptic drug monitoring". *J Clin Psychopharmacol* 5: 263-271.
 16. CURRY, S.; DAVIS, J. M.; JANOWSKY, D. et al. (1970): "Factors affecting chlorpromazine plasma levels in psychiatric patients". *Arch Gen Psychiatry* 22: 209-215.
 17. CURRY, S.; MARSHALL, J. (1968): "Plasma levels of chlorpromazine and some of its relatively non-polar metabolites in psychiatric patients". *Life Sci* 7: 9-17.
 18. DAVIS, J. M.; ERICKSEN, E.; HURT, E. et al. (1985): "Haloperidol plasma levels and clinical response: Basic concepts and clinical data". *Psychopharmacol Bull* 21: 48-51.
 19. DEAN, J. A. (1960): *Flame photometry*. McGraw-Hill, New York.
 20. DETTLI, L. (1983): "Benzodiazepines in the treatment of insomnia: Pharmacokinetic considerations". *The benzodiazepines: From molecular biology to clinical practice*. Costa, E. (Ed.). Raven Press, New York, pp. 201-223.
 21. ENNA, S. J. (1980): "Radioreceptor assays". En: *Physico-chemical methodologies in psychiatric research*. Hanin, I. & Koslow, S. (Eds.). Raven Press, New York, pp. 83-101.
 22. FEKETE, J.; DEL CASTILLO, P.; KRAAK, J. (1981): "Reversed phase liquid chromatography for the separation of chlorpromazine, imipramine and some of their metabolites". *J Chromatogr* 204: 319-327.
 23. GARCIA, M. (1980): Métodos inmunoenzimáticos con especial referencia al sistema EMIT. *Revista A.B.A.* 240: 32-46.
 24. GROB, R. L. (1977): *Modern practice of gas chromatography*. John Wiley & Sons, New York.
 25. HANIN, I.; SHIH, T. M. (1980): "Gas chromatography, mass spectrometry and combined gas chromatography-mass spectrometry". *Physico-chemical methodologies in psychiatric research*. Hanin, I. & Koslow, S. (Eds.). Raven Press, New York, pp. 111-154.
 26. HAWKS, R. (1977): "Cocaína: La sustancia". En: *La cocaína: 1977*. Petersen, R. & Stillman, R. (Eds.). NIDA, Washington, pp. 49-63.
 27. HOKFELT, T.; JOHANSSON, O.; LJUNGDAHL, A. et al. (1980): "Peptidergic neurons". *Nature* 284: 515-521.
 28. HULLIN, R. P. (1979): "Minimum serum lithium levels for effective prophylaxis". En: *Handbook of lithium therapy*. Johnson, F. (Ed.). MTP Press, Lancaster, pp. 243-247.
 29. JATLOW, P.; MILLER, R.; SWIGAR, M. (1982): "Measurement of haloperidol in human plasma using reversed-phase high performance liquid chromatography". *J. Chromatogr* 227: 233-238.

30. KISSINGER, P., BRUNTLETT, C.; SHOUP, R. (1981): "Neurochemical applications of liquid chromatography with electronic detection". *Life Sci* 28: 455-465.
31. KOSLOW, S. H. (1980): "A quantitative probe for biological psychiatry: Selected ion monitoring". En: *Physico-chemical methodologies in psychiatric research*. Hanin, I. & Koslow, S. (Eds.). Raven Press, New York, pp. 155-170.
32. KUTT, H.; PENRY, J. K. (1974): "Usefulness of blood levels of antiepileptic drugs". *Arch Neurol* 31: 283-288.
33. LATINI, R., BONATI, M. & TOGNANI, G. (1980): "Clinical role of blood levels". En: *Frontiers in therapeutic drug monitoring*. Tognoni, G., Latini, R., Jusko, W. (Eds.). Raven Press, New York, pp. 1-7.
34. LIPPMANN, S.; REGAN, W.; MANSADI, M. (1980): "Plasma lithium stability and a comparison of flame photometry and atomic absorption spectrophotometry analysis". *Am J Psychiatry* 138: 1375-1377.
35. MAAS, J. W.; DEKIRMENJIAN, H.; FAWCET, J. A. (1974): "MHPG excretion by patients with affective disorders". *Int Pharmacopsychiat* 9: 14-26.
36. MAVRODINEANU, R.; BOITEUX, H. (1965): *Flame spectroscopy*. John Wiley & Sons, New York.
37. MEDINA, C.; MEDINA, I.; ESPINOZA, E. (1981): "Manejo de anticonvulsivantes". *Hosmil Médica* 2: 25-34.
38. MIDHA, K., COOPER, J.; Mc GILRAY, I.; et al. (1981): "High performance liquid chromatography assay for nairam determination of chlorpromazine and its comparison with a radioimmunoassay". *J. Pharmac Sci* 70: 1043-1047.
39. MIYAZAKI, K.; ARITA, T. (1981): "High-performance liquid chromatograph determination of haloperidol in plasma". *J Chromatogr Sci* 19: 65-71.
40. NECKERS, L. (1979): "Application of high performance liquid chromatography to the assay of biogenic amines and drugs". *Psychopharmacol Bull* 15: 48-49.
41. NECKERS, L.; BOHLEN, P. (1980): "High performance liquid chromatography: Applications". En: *Physico-chemical methodologies in psychiatric research*. Hanin, I. & Koslow, S. (Eds.) Raven Press, New York, pp. 23-36.
42. PANDEY, G. N.; DORUS, E.; DAVIS, J. M., et al. (1979): "Lithium transport in human red blood cells". *Arch Gen Psychiatry* 36: 902-908.
43. PEART, W. S. (1979): "Research in psychiatry: A view from general medicine". *Psychol Med* 9: 205-206.
44. PESH-IMAM, M.; FRETTHOLD, D.; SUNSHINE, I. et al. (1979): "High pressure liquid chromatography for simultaneous analysis of anticonvulsants: Comparison with EMIT system". *The Drug Monitoring* 1: 289-299.
45. RISCH, S.; HUEY, L.; JANOWSKY, D. (1979): "Plasma levels of tricyclic antidepressants and clinical efficacy: Review of the literature. Part I." *J. Clin Psychiatry* 40: 4-16.
46. SAKALIS, G.; CHAN, T. L.; GERSHON, S. et al. (1973): "The possible role of metabolites in therapeutic response to chlorpromazine treatment". *Psychopharmacologia* 32: 279-284.
47. SHIMADZU CORPORATION (s/a): *Atomic absorption spectrophotometry for beginner*. Shimadzu Corporation (Ed.). Tokyo.
48. SJOQVIST, F.; BERTILSSON, L.; ASBERG, M. (1980): "Monitoring tricyclic antidepressants". En: *Frontiers in therapeutic drug monitoring*. Tognoni, G., Latini, R., Jusko, W. (Eds.). Raven Press, New York, pp. 83-92.
49. SMITH, D. (1981): "The separation and determination of chlorpromazine and some of its related compounds by reversed-phase high performance liquid chromatography". *J Chromatogr Sci* 19: 65-71.
50. SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J. (1979): *Introducción to modern liquid chromatography*. John Wiley & Sons, New York.
51. SPECTOR, S. (1979): "Radioimmunoassay technique in kinetic studies". En: *The kinetics of psychiatric drugs*.

- Schoolar, J. C. & Claghorn, J. L. (Eds.). Brunner/Mazel, New York, pp. 55-62.
52. SUZUKI, H., MINAKI, Y.; IWASAKI, M. et al. (1980): "Determination of haloperidol in human serum by radioimmunoassay". *J. Pharm Dyn* 3: 250-257.
53. SYVA (1980): EMIT-aed. *Information Brochure*. Syva.
54. TARGUM, S.; SULLIVAN, A.; BYRNES, S. (1982): "Neuroendocrine inter-relationships in major depressive disorder". *Am J Psychiatry* 139: 282-286.
55. TUNE, L.; CREESE, I.; DE PAULO, R. et al. (1981): "Neuroleptic serum level measured by radioreceptor assay and clinical response in schizophrenic patients". *J Nervous Ment Dis* 169: 60-63.
56. WIGHTMAN, M.; PLOTSKY, P.; STROPE, E. et al. (1977): Liquid chromatographic monitoring of CSF metabolites". *Brain Res* 131: 345-349.

Dirección Postal
Av. Benavides 264-203
Lima 18, Perú